

DISKELEKTROPHORETISCHE AUFTRENNUNGEN
VON SEKRETEN
MENSCHLICHER OHRSPEICHELDRÜSEN
MIT AKUTEN UND CHRONISCHEN ENTZÜNDUNGEN
MIT DENSITOMETRISCHER AUSWERTUNG

Rainer Koch

1977

Dissertations- und Fotodruck Anneliese SCHUBERT
8 München 5 • Corneliusstraße 21 • Tel.: 268177

Aus der Hals-Nasen-Ohren-Klinik
der Universität München
Direktor: Professor Dr. H. - H. Naumann

DISKELEKTROPHORETISCHE AUFTRENNUNGEN VON SEKRETEN
MENSCHLICHER OHRSPEICHELDRÜSEN MIT AKUTEN UND
CHRONISCHEN ENTZÜNDUNGEN, MIT DENSITOMETRISCHER
AUSWERTUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt

von

Rainer Koch

aus

Aham

Jahr

1977



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Eichner
Mitherberichterstatter: Professor Dr. H.-H. Naumann
Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.11.1977

Gliederung

	Seite
A: Einleitung	1
B: I. Theoretischer Teil	3
1. akute Parotitiden:	
bakteriell, viral, Pilze, Allergie	4
2. chron. Parotitiden:	
chron. rezidiv., mit Einteilung der	
Stadien, Sjögren S., spezifische P.	5
Diagnosemöglichkeiten	13
1. Histologie	13
2. Sialographie	14
3. Szintigraphie	15
4. Sialochemie	17
II. Praktischer Teil	19
a) Material und Methodik	19
1. Polyacrylamidgel	21
2. Elektrodenpuffer	24
3. Apparative Ausrüstung und	
Durchführung der Elektrophorese	25
4. Farbreaktionen für Proteine	27
5. Densitometrie	29
b) Ergebnisse	31

c) Diskussion 35

C.: Zusammenfassung 38

Literatur 61

A) Einleitung

Die menschlichen Kopfspeicheldrüsen haben wichtige Funktionen im Rahmen der Verdauung, wie auch als Ausscheidungsorgane von Abbaustoffen, Blutgruppenfaktoren etc. und im Rahmen der Infektionsabwehr. Dennoch sind diese oberflächlich gelegenen Organe nicht so gründlich erforscht wie beispielsweise Leber oder Pankreas. Die Glandula Parotis, als die am besten zugängliche Kopfspeicheldrüse, ist in der Zusammensetzung ihres Sekretes und deren Veränderungen unter Ruhe- und Reizbedingungen bei Normalpersonen schon in einer Anzahl von Arbeiten untersucht worden (Rauch, 1959, Benedikt-Spät, 1973, Dawes 1973, Ferguson, 1973, Shannon 1973). Als Parameter wurden bisher in der Regel Flußrate, Elektrolyt- und Eiweißgehalt genommen (Wolf, 1964, Shurk 1971, Rauch 1959). Unter physiologischen Bedingungen hängt die Zusammensetzung dieses Sekretes von mehreren Faktoren wie der Circadianrhythmik (Dawes, 1973, Ferguson, 1973, Albegger, 1973), dem Alter (Rauch, 1959) und der psychischen Stimmungslage (Brown, 1969) ab. Außerdem beeinflussen systemische Erkrankungen wie Diabetes (Rauch, 1959, Korp, 1953) Hypertonie (Kreusser, 1971), oder rheumatische Erkrankungen (Rauch, 1959) das Sekretionsverhalten der Speicheldrüsen.

Elektrophoretische Auftrennungen des Parotissekrets wurden bisher schon an Normalprobanden vorgenommen, in den vergangenen Jahren vor allem mit Hilfe der Papier- und Zelluloseacetatfolienelektrophorese (Zippel, 1968). In der Zwischenzeit hat sich die Acrylamidgelelektrophorese als geeignetste Methode für diese Untersuchungen herausgestellt. (Steiner, 1968, Mayo, 1974, Smith, 1974).

Es lag nahe nach diesem Verfahren das Verhalten der Proteinauftrennungen bei drüsenspezifischen Erkrankungen zu untersuchen. In der folgenden Arbeit werden die Beobachtungen bei der diskelektrophoretischen Auftrennung von Sekret bei akuten und chronischen Parotitiden geschildert. Es wurde insbesondere untersucht, inwieweit die diskelektrophoretische Auftrennung für die Diagnostik der Ohrspeicheldrüsenentzündung von Wert sein könnte. Deshalb wurden bei den untersuchten Patienten ergänzend sowohl sialographische wie szintigraphische Untersuchungen durchgeführt.

B) I. Theoretischer Teil

Bei der Untersuchung über das diskelektrophoretische Verhalten des Drüsensekrets bei den verschiedenen Formen der Parotitis wurde deren Einteilung nach dem klinischen Bild der jeweiligen Entzündung vorgenommen (modifiziert nach Seifert, 1971). Unter Berücksichtigung der Ätiologie kann man danach grundsätzlich zwei Formen unterscheiden:

1. Die akute Parotitis, die einerseits bakteriell bedingt sein kann, andererseits viral bei der Parotitis epidemica (Mumps), Cytomegalie und Coxsackieinfektion. Außerdem kommen Pilze (Aktinomykose) und allergische Reaktionen (Medikamente, Nahrung) ätiologisch in Betracht.
2. Die chronische Parotitis, bei der man die bakterielle (chronisch-rezidivierende), die allergische (Sjögren-Syndrom) und die spezifische (Tuberkulose, Lues) unterscheiden kann.

1. Die akute Parotitis

Die akute eitrige Parotitis, vorwiegend durch hämolysierende Strepto- und Staphylokokken hervorgerufen, entwickelt sich meist als Sekundärinfektion bei schweren Allgemeinerkrankungen und hat ihren Altersgipfel jenseits des 60. Lebensjahres (Mehnert, 1962). Sie manifestiert sich vorwiegend beidseitig in Form einer schmerzhaften Schwellung. Es wird eine Keimaszension aus der Mundhöhle bei verminderter Abwehrlage angenommen.

Als Komplikationen wurden Abszesse und Speichelfisteln beobachtet.

Postoperativ kommt auch gelegentlich eine bakterielle Form der Entzündung vor, bei der die verminderte Speichelsekretion auf Grund einer Exsiccose und vasculär-toxischer Faktoren eine Rolle spielen. Es handelt sich um eine schmerzhafteste, in 2/3 der Fälle einseitige Schwellung. Bei den viral bedingten Formen treten die Coxsackie- und Cytomegalieinfektionen fast ausschließlich im Säuglingsalter auf. Die Parotitis epidemica ist eine Erkrankung, die Knaben im schulpflichtigen Alter bevorzugt, gelegentlich erkranken junge Erwachsene, fast nie alte Menschen. Diese generalisierte Virusinfektion führt an der Parotis zu einer

meist doppelseitigen Schwellung, kann aber auch ganz ohne Beteiligung der Speicheldrüsen ablaufen (Pankreatitis, Encephalitis). Bei der akuten allergischen Sialadenitis kommen Nahrungsallergene oder medikamentöse Noxen als Antigene in Betracht. Diese akuten Entzündungen gehen mit flüchtigen Schwellungen und uncharakteristischen morphologischen Befunden einher (Rauch, 1959, Seifert, 1971). Ihr Anteil an der akuten Entzündung unklarer Genese ist nicht genau bekannt, sollte aber nicht unterschätzt werden.

2. Die chronische Parotitis

ist die häufigste und klinisch bedeutsamste Erkrankung der Ohrspeicheldrüse. Sie wird vorwiegend durch hämolysierende Strepto- und Staphylokokken hervorgerufen, wobei der Entzündungsprozeß sich meist canaliculär-aszendierend, aber auch hämatogen oder lymphogen entwickelt. Begünstigend wirken Stoffwechselstörungen (Diabetes mellitus) und lokale Faktoren wie Speichelsteine und Ganganomalien.

Die chronische Parotitis entsteht entweder als Folgezustand einer akuten Entzündung, oder chronisch schleichend, ohne schwere akute Exarcebationen. Klinisch überwiegt die rezidivierende Form, die gekennzeichnet

ist durch akute Phasen mit schmerzhaften, ein- oder doppelseitigen Schwellungen, die Walnußgröße erreichen können (Krepler, 1958), andererseits durch klinisch unauffällige oder subakute Phasen. Die Altersverteilung dieser Erkrankung weist einen Gipfel im Kindesalter (Nissen, 1955) und einen zweiten im 4.-5. Lebensjahrzehnt auf, mit überwiegendem Vorkommen beim weiblichen Geschlecht (Rauch, 1959). Die Form des Kindesalters zeigt die Neigung in der Pubertät spontan auszuheilen, während die des Erwachsenenalters eine ungünstige Prognose bezüglich der Ausheilung hat. Morphologisch liegt diesem chronischen Entzündungsprozeß ein fortschreitender Untergang seröser Acini zugrunde, der zu einer Abnahme an sezernierendem Drüsengewebe führt. Diese Verminderung der Sekretionsleistung der Drüse begünstigt wiederum die Keimaszension, da die Spülwirkung vermindert ist. Die entzündlichen Infiltrate sind vorwiegend pericanaliculär lokalisiert. Der weitere Verlauf der Entzündung ist gekennzeichnet durch eine zunehmende Fibrosierung des interstitiellen Bindegewebes, Vakatuwucherung des Fettgewebes, Gangwucherung und die Neigung zu Mikrolithenbildung (eingedicktes Sekret). Das Bild der pathologischen Veränderungen an den Ausführungsgängen ist recht vielfältig. Man kann die verschiedenen Formen aufgrund sialographischer Untersuchungen folgendermaßen klas-

sifizieren (modifiziert nach Schulz, 1969):

a) Ektasien

1. Kugelförmige Ektasien der Gangenden
2. Ektasien der interglandulären Aufzweigungen
3. Ektasien des Stenonganges

b) Narbige Einengung des ektatischen Stenonganges

c) Pathologische Parenchymdarstellung

d) Flächenhafte Verbreiterung der Endaufzweigungen

e) Kaliberschwankungen und Vergröberung

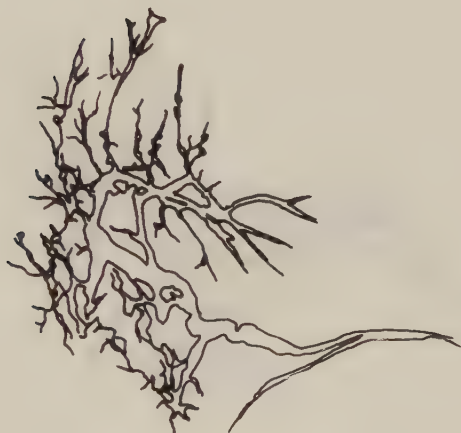
- 1) Kaliberschwankungen des Stenonganges
- 2) Kaliberschwankungen und Vergröberung der interglandulären Aufzweigungen
- 3) Verplumpung aller Gänge, große Hohlräume.

Abb. 1a: Beispiel für entzündliche Veränderungen
an den Ausführungsgängen der Gl. Parotis,
schematisch nach Sialographien.



Diese Abbildung zeigt die Ektasien der interglandulären Aufzweigung (entspr. a_2).

Abb. 1b: Beispiel für entzündliche Veränderungen an den Ausführungsgängen der Gl. Parotis, schematisch nach Sialographien.



Diese Abbildung zeigt narbige Einengungen des ektatischen Stenonganges, flächenhafte Verbreiterungen der Endaufzweigungen und Ektasien der intergl. Aufzweigungen (entspr. Kombin. von a_2 , b, d).

Abb. 1c: Beispiel für entzündliche Veränderungen an den Ausführungsgängen der Gl. Parotis, schematisch nach Sialographien.



Diese Abbildung zeigt kugelförmige Ektasien der Gangenden und narbige Einengungen des ektatischen Stenonganges (entspr. a₁ und b).

Abb. 1d: Beispiel für entzündliche Veränderungen an den Ausführungsgängen der Gl. Parotis, schematisch nach Sialographien.



Diese Abbildung zeigt die Verplumpung aller Gänge unter Bildung großer Hohlräume (entspr. e_3).

Diese Untersuchungen ergaben, daß die verschiedenen morphologischen Bilder der Dauer des Krankheitsverlaufs ebensowenig zugeordnet werden können wie der Schwere der klinischen Beschwerden der Patienten. Es handelt sich vielmehr um verschiedene Manifestationsformen einer Erkrankung. So kann die flächenhafte Verbreiterung der Endaufzweigungen schon bei einer Woche bis Monate dauernden Geschehen auftreten, während die weniger imponierenden kugelförmigen Ektasien der Gangenden bei einem über 10-jährigen Verlauf vorliegen können. Andererseits kann man davon ausgehen, daß die Kombination mehrerer oben genannter Veränderungen bis hin zum Bild der völligen Verplumpung der Gänge, als Maßstab für die zunehmende Schwere des Krankheitsbildes zu werten ist. Bei der myoepthe-
lialen Sialadenitis (bevorzugt an der Gl. Parotis) handelt es sich um eine Erkrankung, die dem rheumato-
iden Formenkreis mit immunpathologischer Reaktion zugeordnet wird (Sjögren-Syndrom). Die wichtigsten Symptome sind Xerostomie, Dysphagie, Heiserkeit, chro-
nische Keratokonjunktivitis sicca und eine chronische rheumatoide Arthritis. Es liegt eine tumorartige Schwellung vor, der ein Untergang des sekretorischen Drüsenparenchyms zugrundeliegt, mit interstitieller lymphocytärer Infiltration und eingelagerter myoepi-

thelialen Inseln (Seifert, 1966).

Die seltenen Formen der Tuberkulose und der Lues der Parotis seien hier nur erwähnt. Die wichtigsten Differentialdiagnosen zur Entzündung sind die Sialadenosen und die Speicheldrüsentumore.

Diagnosemöglichkeiten

Die wichtigsten diagnostischen Hilfsmittel im Bereich der Speicheldrüsenenerkrankungen sind:

1. Histologie
2. Sialographie
3. Szintigraphie
4. Sialochemie

1. Histologie

Die histologische Untersuchung dient in erster Linie der Tumordiagnostik und wird bei Entzündungen nicht systematisch durchgeführt, da zu diesem Zweck eine Probeexcission erforderlich ist. Bei der chronischen Parotitis wurden die folgenden histologischen Befunde erhoben: Schwellung des Parenchyms mit Kompression

der serösen Acini, entzündliche Infiltrate pericanaliculär, interstitielle Fibrose, Plattenepithelmetaplasien im Gangsystem oder Endocanaliculitis mit Epithelproliferation. Daraus entwickelt sich eine Fibrosierung mit einer Verengung der Ganglichtung. Der Nachweis dieser pathologischen Veränderungen ist zur Sicherung der Diagnose "Parotitis" aber nicht erforderlich, sie ergibt sich aus dem klinischen Bild und den anderen diagnostischen Verfahren. Die Histologie dient also in unklaren Fällen der Differentialdiagnostik.

2. Sialographie

Die Sialographie ist ein Röntgenkontrastverfahren, das auf den Franzosen Arcelin zurückgeht, dem 1912 die Kontrastdarstellung der Gl. Parotis am Lebenden mit einer Wismutfüllung gelang. Lange Zeit wurden zu diesem Zweck ölige Substanzen verwendet, die in den vergangenen 20 Jahren durch trijodierte, wässrige Kontrastmittel ergänzt wurden, die besser verträglich sind, deren Kontrastverhalten aber etwas schlechter ist. Zur Routinediagnostik werden solche wässrigen Kontrastmittel verwendet, die mit speziellen Nadeln in den Stenongang injiziert werden, wobei dieser

durch die Nadeln gegen ein Zurückströmen des Kontrastmittels abgedichtet ist. Das Bild einer mit Kontrastmittel gefüllten Gl. Parotis ähnelt einem belebten Baum. Die beste Beurteilung der Drüse ergibt sich, wenn die Aufnahme schräg von vorne seitlich erfolgt. In den meisten Fällen kann so das Gangsystem chronisch entzündeter Drüsen deutlich dargestellt werden, während dies bei der akuten Form in der Regel nicht gelingt, da hier die Ausführungsgänge maximal verengt sind. Die Sialographie wird daher in der Diagnostik der akuten Parotitis kaum angewendet, zumal sie hier mit starken Schmerzen verbunden ist. Die morphologischen Veränderungen des Gangsystems der entzündeten Drüse wurden in ihren verschiedenen Bildern schon besprochen (S. 7 und 12).

3. Szintigraphie

In der Medizin werden heute radioaktive Isotope routinemäßig als diagnostische Indikatoren angewendet. Als Beispiele seien das ^{131}J bei Schilddrüsen- und Nierendiagnostik, das ^{51}Cr für die Milzdiagnostik, ^{198}Au für die Leber- und Lymphknotenszintigraphie und das $^{99\text{m}}\text{Tc}$ für die Indikationsgebiete Schilddrüse, Li-

quorraum, Speicheldrüsen angeführt. Das ^{99m}Tc wird aus Molybdän gewonnen und kommt als Pertechnat zur Anwendung. Es weist sehr günstige physikalische Eigenschaften auf, vor allem, was die Belange des Strahlenschutzes betrifft. Die Halbwertszeit des $^{99m}\text{Technetium}$ s beträgt 6 h, es zerfällt in das ^{99}Tc , das auf Grund seiner sehr langen Halbwertszeit keine meßbare Aktivität mehr entwickelt. Beim ^{99m}Tc handelt es sich um einen fast monoenergetischen Gammastrahler, dessen Halbwertsdicke im Gewebe bei 4,6 cm liegt, was eine sehr geringe Gewebeabsorption zur Folge hat. Beim Er wachsenen werden 2 mCi Technetium intravenös appliziert. Mittels einer Zählkammer, an die ein Schreiber angeschlossen ist, wird die Aktivität im Kopfbereich des Patienten frontal und seitlich erfaßt und in ihrer zweidimensionalen Verteilung durch den Schreiber registriert. Sofort nach der i.v.-Applikation des Tc wird eine erhöhte Aktivität über den Speicheldrüsen registriert. Das Maximum der Speicherung über der Gl. Parotis ist nach ca. 20 - 40 min. p.i. erreicht. Die Auswertung von Szintigrammen entzündlich veränderter Ohrspeicheldrüsen ergab, daß sich die Schädigung in einem Aktivitätsunterschied zwischen gesunder und kranker Seite zeigt (Brands, 1972). Die Speicherung kann stark vermindert oder auch erhöht sein, was für die Diagnostik nur beschränkt von Nutzen ist, beson-

ders dann, wenn die Entzündung beide Seiten betrifft. Hieraus leitet sich der Schluß ab, daß die Speicheldrüzenszintigraphie ihr Hauptanwendungsgebiet in der Diagnostik der Tumore haben muß, insbesondere zu ihrer Differenzierung hinsichtlich der Dignität.

4. Sialochemie

Die chemische Untersuchung des Speichels als diagnostische Technik bietet sich an, zumal das erforderliche Material bei jeder zur Sialographie nötigen Kanülierung des Stenonganges problemlos und rein gewonnen werden kann. Es existieren schon Untersuchungen über das Verhalten der Speichelsekretion und über den Elektrolyt- und Proteingehalt (Rauch, 1959, Brands, 1972). Die verschiedenen Bauteile der Speicheldrüsen haben unterschiedliche Aufgaben. In den Endstücken findet vorwiegend die Speichelproduktion statt. Die Schaltstücke und die Streifenstücke haben im Wesentlichen Resorptions- und Sekretionsfunktion, was sie in der Funktion den Nierentubuli vergleichbar macht (Bland, 1959, Truniger, 1969). In diesen Abschnitten werden die Elektrolyte und andere Bestandteile des Speichels ausbalanciert.

Brands untersuchte das Verhalten der Elektrolytkonzentration am Speichel gesunder und an Parotitis erkrankter Patienten. Er stellte eine Zunahme der Kalium-Konzentration, eine starke Erhöhung der Natrium- und Chlorkonzentration und eine Abnahme der Kalziumkonzentration im Speichel der entzündeten Drüsen fest, während die zum Vergleich ermittelten Serumelektrolyte erwartungsgemäß keine Veränderungen zeigten.

Diese Untersuchungen wurden unter Ruhebedingungen durchgeführt, d.h. die Drüse wurde nicht stimuliert.

Die Speichelproteine wurden früher vereinzelt wie die Serumproteine mit Hilfe der Papier- und Membranfolienelektrophorese untersucht (Zippel, 1968), es liegen aber keine ausführlichen Arbeiten zu diesem Thema vor, ebenso wenig über die Proteinzusammensetzung der Sekrete pathologisch veränderter Speicheldrüsen. Da sich in neueren Arbeiten (Smith, 1974, Steiner, 1968), Mayo, 1974) die Acrylamidgelelektrophorese als das am besten geeignete Verfahren zur Auftrennung von Speichelproteinen erwiesen hat, wurde diese Methode angewandt, als es galt den Gegenstand dieser Arbeit zu untersuchen: Diskelektrophoretische Auftrennungen von Sekreten menschlicher Ohrspeicheldrüsen mit akuten und chronischen Entzündungen.

II. Praktischer Teil

a) Material und Methodik

Sekretgewinnung: Die Kanülierung des Ductus stenoni wurde mit einem Polyvinylkatheder vorgenommen, dessen äußerer Durchmesser 1 mm, bei einem Innendurchmesser von 0,5 mm, betrug. Es wurde zunächst über 20 min., fraktioniert in 10 minütigen Abständen, Ruhesekret gewonnen. Anschließend wurden die Patienten aufgefordert zur gustatorischen Stimulation Ascorbinsäuretabletten im Munde zergehen zu lassen. Dieses Reizsekret wurde 30 min. lang wieder in 10 minütigen Fraktionen gesammelt und anschließend elektrophoretisch untersucht.

Zur Untersuchung gelangte das Sekret von 10 Normalpersonen, 7 Patienten mit einer akuten Parotitis und 11 Patienten mit chronisch-rezidivierender Parotitis, bei 5 Patienten während einer Phase der akuten Entzündung, bei den anderen 6 im entzündungsfreien Intervall.

Die Einteilung in die verschiedenen Formen erfolgte zum größten Teil aufgrund des anamnestischen und klinischen Befundes. Ergänzend wurden Sialographien (bei den chronischen Formen) und zum Teil Szintigraphien durchgeführt.

Theorie der Diskelektrophorese (nach Maurer, 1968):

Die Diskelektrophorese ist dadurch gekennzeichnet, daß in ihr ein hinsichtlich pH-Wert, Pufferzusammensetzung und Gelporengröße diskontinuierliches Trennsystem vorliegt. Der entscheidende Vorteil dieser Diskontinuitäten liegt in der Tatsache begründet, daß vor Trennbeginn sehr schmale, hochkonzentrierte Startzonen des aufgetragenen Materials entstehen, die für die Schärfe der Trennungen entscheidend sind. Dabei wirken zwei physikalische Effekte, die das hohe Auflösungsvermögen bedingen:

1. Der Konzentrierungseffekt, der dazu führt, daß die Substanzen vor ihrer Trennung zu einer scharf begrenzten Zone konzentriert werden. Dies wird durch die Tatsache erreicht, daß Puffer und Trenngel einen unterschiedlichen pH aufweisen.
2. Der Molekularsiebeffekt, danach werden die gelösten Proteine, die mit der Probe aufgebracht werden, nicht nur nach ihrer elektrischen Gesamtladung beim herrschenden pH, sondern auch nach ihrem Molekulargewicht und ihrer Tertiärstruktur getrennt. Durch die vorgegebene Porengröße des Trenngels wird der Reibungswiderstand der einzelnen Moleküle von ihrer Größe und Form bestimmt. In diesem Fall fand ein mittelporiges,

7,5%iges Polyacrylamidgel mit dem pH 8,9 Verwendung. Auf die Möglichkeit, die Diskontinuität im Gelsystem durch die Verwendung eines großporigen Sammelgels und eines kleinporigen Trenngels zu erhöhen, wurde verzichtet, da das Auflösungsvermögen dadurch nicht verbessert wurde.

1. Bildung und Struktur des Polyacrylamid-Gels

Für die Wahl des Trenngels in Zusammensetzung und pH ist die Art des verwendeten Systems entscheidend. In diesem Fall wurde im anionischen System gearbeitet, in dem negativ geladene Proteinmoleküle in Richtung auf die Anode durch das Gel wandern.

Das Polyacrylamid-Gel ist das Polymerisations- und Vernetzungsprodukt von Acrylsäureamid und dem Vernetzer N,N'-Methylenbisacrylamid. Dabei entsteht ein Maschenwerk aus Polyacrylamidketten, die mit Hilfe des Bisacrylamids miteinander vernetzen. Viskosität, Elastizität und Festigkeit des Gels hängen vom Grad der Polymerisation (Kettenlänge) und der Vernetzung ab. Die Dichte des Gels kann man auch als durchschnittliche Porengröße beschreiben. Im Falle des verwendeten 7,5%igen Gels läßt sich eine durchschnittliche Porenweite von $50\text{\AA}$ berechnen. Diese Gelzusammensetzung er-

möglichst eine optimale Auftrennung von Proteingemischen im Molekulargewichtsbereich von 10^4 - 10^6 und ist für die Auftrennung der Speichelproteine gut geeignet. Als Polymerisationskatalysatoren werden Katalysator-Redoxsysteme verwendet, die freie Radikale liefern; in diesem Fall: Ammoniumperoxodisulfat - N,N,N',N'-Tetramethyläthylendiamin (Temed).

Das Gel wurde nach folgendem Rezept hergestellt:

Lösung 1: 1n HCl	480ml
Tris(-hydroxymethyl-aminomethan)	366g
Temed	0,23ml
Aqua dest.	ad 1000ml

Lösung 2: Acrylamid	300g
Bisacrylamid	28,8g
Aqua dest.	ad 1000ml

Lösung 3: Ammoniumperoxodisulfat	600mg
Aqua dest.	ad 1000ml

Zur Gelpolymerisation werden diese Lösungen wie folgt gemischt:

Aqua dest.	:	1 Teil
Lösung 1	:	1 Teil
Lösung 2	:	2 Teile
Lösung 3	:	4 Teile

2. Elektrodenpuffer

Für die Wahl des Elektrodenpuffers ist der pH des Trenngels und der Substanz von Bedeutung. Die chemische und biologische Stabilität der Substanz und deren Löslichkeit sollen erhalten bleiben, andererseits soll der pH des Elektrodenpuffers etwa dem des Trenngelpuffers entsprechen. Diese Bedingungen werden vom verwendeten Tris-Glycin-Puffer mit dem pH 8,3 erfüllt. Er wurde nach folgendem Rezept hergestellt:

Tris	6g
Glycin	28,8g
aqua dest.	ad 1000ml

In dieser Verdünnung wurde der Puffer in einer dunklen Glasflasche im Kühlschrank aufbewahrt. Der Elektrodenpuffer wurde daraus durch Verdünnung mit Aqua dest. auf das Zehnfache hergestellt. Vor und nach dem Elektrophoreselauf wurde der Puffer-pH gemessen. Es stellte sich heraus, daß sich dieser nach einem Lauf im Kathodenpuffer von 8,3 auf ca. 10 erhöhte, im Anodenpuffer auf ca. 6 erniedrigte. Um gleiche Bedingungen zu gewährleisten, wurde der Puffer zu jedem Lauf erneuert.

3. Apparative Ausrüstung und Durchführung der Elektrophorese

Als Trennkammer fand ein Gerät der Firma WTW, Weilheim, Typ DEA 90, Verwendung. Es handelt sich um ein zweikammeriges, zylindrisches Gefäß, in dem sechzehn gelgefüllte Glasröhrchen Platz haben. Das Gerät ist mit einer Wasserkühlvorrichtung versehen. Die Glasröhrchen weisen eine Länge von ca. 14 cm auf, bei einem Innendurchmesser von 6 mm und einem Außendurchmesser von 9 mm.

Das Gel wird folgendermaßen hergestellt:

Nachdem man die Lösungen nach oben angegebenem Rezept hergestellt und gemischt hat, werden mit einer Injektionsspritze die Glasröhrchen gleich hoch bis ca. 10 cm mit dieser Lösung aufgefüllt, nachdem sie vorher auf der Unterseite mit "Parafilm" verschlossen wurden. Da das Gel nur unter Luftabschluß polymerisiert, muß es in jedem Röhrchen vorsichtig mit Aqua dest. überschichtet werden. Dies geschieht mit Hilfe einer auf die Injektionsspritze aufgesetzten langen Kanüle. Nach einer Stunde ist das Gel auspolymerisiert. Jetzt wird der Parafilm entfernt, das überschichtete Wasser abgesaugt und die Glasröhrchen werden in die dafür vorgesehenen Bohrungen in der oberen Elektrophoresekammer so ge-

schoben, daß sie ca. 3 cm nach oben überstehen. Die untere Kammer wird nun mit Tris-Glycerin-Puffer bis zur Markierung aufgefüllt. Wenn jetzt die obere Kammer aufgesetzt wird, tauchen die Glasröhrchen in diesen Puffer ein. In die obere Kammer wird der gleiche Puffer, mit 2 ml einer 0,001%igen Thymolblaulösung versetzt, eingefüllt. Die Thymolblaubande läuft den Proteinbanden voraus und übernimmt somit die Rolle eines Indikators, der anzeigt, wann der Lauf beendet ist. Die Substanz, der Patientenspeichel, wird mit einer Mikroliterspritze mit langer Kanüle ganz nahe der Geloberfläche dem Puffer unterschichtet. Die aufgebrachte Speichelmenge betrug immer 0,1 ml. Die Elektroden werden nun an ein Gleichstromnetzgerät angeschlossen, das eine konstante Stromstärke liefert. Die untere Kammer wird an den Plus-, die obere an den Minuspol angeschlossen. Beim herrschenden alkalischen pH wandern die negativ-geladenen Proteine im Gel abwärts. 10 Minuten lang wird ein Strom von 2mA/Gel eingeschaltet (= 32mA bei 16 Röhrchen), wodurch eine stärkere Konzentration der Substanz an der Oberfläche des Gels erreicht werden soll. Danach wird der Strom auf 5mA/Gel (= 80mA) erhöht und für die Dauer des Laufs beibehalten. Um die Erwärmung des Puffers möglichst gering zu halten, ist die Wasserkühlung des Geräts in Betrieb. Nach ca. 1 1/2 Stunden ist die den Proteinen vorausgehende

Thymolblaubande etwa 9 cm im Gel abwärts gewandert. Jetzt wird der Strom abgeschaltet und die obere Kammer abgenommen. Möglichst rasch, um eine Diffusion der Proteine so gering wie möglich zu halten, müssen die Gele nun aus den Röhrchen entfernt und fixiert werden. Das Entfernen geschieht mit Hilfe einer langen, dicken Kanüle, mit der eine 50%ige wässrige Glycerinlösung vorsichtig zwischen Gel und Glas gespritzt wird, um beide voneinander zu lösen. Durch behutsames Hin- und Herbewegen zieht man das Gel langsam heraus. Man muß darauf bedacht sein, möglichst jede Beschädigung, besonders die Verletzung der Oberfläche, zu vermeiden, damit die densitometrische Auswertung nicht beeinträchtigt wird. Die Gele werden sofort zur Fixierung der Proteine in Reagenzgläser mit 10%iger Trichloressigsäure gegeben und 15 min lang geschüttelt.

4. Farbreaktionen für Proteine

Zur Färbung von Polyacrylamid-Gelen kommen eine Reihe von Farbstoffen in Betracht, wie Amidoschwarz, Procion Brilliant Blue, Azocarmin B oder Coomassie Brilliant Blue G 250, das in unserem Fall verwendet wurde. Letzterer, ein Farbstoff aus der Magentafamilie, zeichnet

sich durch hohe Empfindlichkeit und Gleichmäßigkeit der Bindung mit verschiedenen Proteinen aus, was für die quantitative densitometrische Auswertung von Vorteil ist. Coomassie Brilliant Blue reagiert in saurem Milieu durch elektrostatische und Van-der-Waalsche Kräfte mit NH_3^+ - und apolaren Proteingruppen. Da sich das Gel auch zwischen den Proteinbanden anfärbt, muß es nach der Färbung mit 7%iger Essigsäure entfärbt werden.

Durchführung der Färbung

Anschließend an die Fixierung in 10%iger Trichloressigsäure wird diese Lösung aus den Reagenzgläsern entfernt und durch die Färbelösung ersetzt. Diese wird folgendermaßen hergestellt: Aus dem pulverförmigen Coomassie G 250 wird eine 1%ige wässrige Lösung bereitet, die mehrfach gefiltert wird. Zur Färbung wird nun ein Teil dieser Lösung mit 19 Teilen 10%iger Trichloressigsäure versetzt. In dieser Lösung bleiben die Gele für 24 Stunden, danach müssen sie 48 Stunden in einem 7%igen Essigsäurebad unter Rühren entfärbt werden. Die Proteinbanden bleiben danach weiterhin dunkelblau gefärbt, während das Gel durchsichtig wird.

Bei den Normalprobanden wurde der Speichel aus beiden

Seiten, bei den Parotitis-Patienten jeweils aus der entzündeten Seite, gewonnen. Es fielen somit meistens zwischen 5 und 10 Proben pro Patient an. Diese Gele wurden zur Auswertung nebeneinanderliegend photographiert und anschließend quantitativ densitometrisch untersucht. Dazu waren sie vorher in mit 7%iger Essigsäure gefüllte kleine Reagenzgläser gegeben worden, die mit einem Gummistöpsel verschlossen wurden.

5. Densitometrie

Die densitometrische Auswertung wurde mit folgendem Gerät durchgeführt: Vernon Photometre Integrateur Enregistreur, Typ TRD 5 RV. Es handelt sich um ein Photometer, das die gemessenen Färbeintensitäten durch Aufzeichnung von Peaks registriert und außerdem über einen Integralschreiber verfügt, der durch Impulsschreibung die quantitative Auswertung ermöglicht.

Meßprinzip: Der Lichtstrahl einer Niederspannungslampe wird durch einen Spaltmechanismus und ein Verschlusssystem moduliert, das synchron mit der Frequenz der Wechselstromversorgung schwingt. Ein Teil dieses modulierten Lichts fällt auf eine Photozelle, die der Eichung dient. In den anderen Teil des Lichtstrahl wird die zu

analysierende Probe eingebracht. Der Lichtstrahl passiert zuvor einen Spalt, dessen Breite sich in 5 Stufen verstellen läßt. Außerdem ist die Länge des Spaltes von 0 - 25 mm regelbar, zur Anpassung an die Breite der Probe, in diesem Fall des Reagenzglases mit dem Gel. Die Meßwerte werden mit Hilfe eines am Anzeigegerät befestigten Schreibers auf einen Papierstreifen übertragen, der mit der gleichen Geschwindigkeit wie die Probe läuft (Abb. 3 - 10). Außerdem werden von einem Integralschreiber Impulse als Striche unter diese Kurven gezeichnet.

Auswertung: Zur Auswertung der einzelnen Kurven zieht man von der Mitte jeder Kurvensenkung die Senkrechte bis zur Impulslinie des Integralschreibers. Man zählt nun die Impulse zwischen den Senkrechten und notiert sich die Werte. Die Summe der Werte ergibt die Gesamtimpulszahl, die der Gesamtabsorption der Banden im Gel entspricht. Der Quotient aus der Impulszahl jedes Kurvenabschnitts und der Gesamtimpulszahl ist gleich dem prozentualen Anteil dieses Kurventeils an der Gesamtabsorption.

b) Ergebnisse

Im Vergleich zu den Sekreten von Normalprobanden zeigen die diskelektrophoretischen Bandenmuster deutliche Veränderungen bei akuten und chronischen Entzündungsssekreten (Abb. 2a - d). Neben den diskreten Veränderungen in nahezu allen Bandenbereichen bei Entzündungsssekreten im Vergleich zu Normalsekreten, soll hier nur auf die Veränderungen zweier Banden eingegangen werden, deren Herkunft und Identität geklärt sind und deren Veränderungen signifikant sind. Es handelt sich um die Bandengruppe d_{1-4} , die Isoamylasenbanden, und um die h-Bande, die immumelektrophoretisch nachgewiesene Serumalbuminbande. Die Amylasen sind drüsenspezifische Enzymproteine, die in den Acini sezerniert werden. In den Normalsekreten erhöht sich ihr Ruhewert von 37% unter Stimulation auf 44% der Gesamtproteinmenge (Tab. 2a), obwohl die Flußrate stark ansteigt. Die Bande des Albumins zeigt eine Abnahme von 8,4% bei Ruhe, auf 3,4% bei Reiz (Tab. 2a), da die Flüssigkeitsmenge sich erhöht hat.

Bei akuten Entzündungen ist die Flußrate stark vermindert, in einzelnen Fällen so stark, daß kein Ruhesekret zur Untersuchung gewonnen werden konnte (Pat. H.R., I.S., A.S.). Bei diesen Patienten wurde nur das Reiz-

sekret untersucht. Die Amylasekonzentration mit 29% im Ruhesekret ist relativ erniedrigt und ändert sich unter Reiz nur unwesentlich. Die Gesamtproteinmenge im Sekret ist erhöht, da durch die Entzündung die Permeabilität für Proteine im Gangsystem stark erhöht ist. Dies wird durch den Wert von 12% für den Anteil des Serumalbumins in Ruhe unterstrichen. Unter Stimulation erhöht sich dieser noch auf 16% und verhält sich damit umgekehrt wie im Normalsekret, wo die Albuminkonzentration unter Reiz vermindert ist. Die Vermehrung der h-Bandenintensität bei Reiz ist also charakteristisch für die akute Entzündung (Tab. 2b).

Ähnliches gilt für die Bandenstruktur bei den chronisch rezidivierenden Parotitiden im akuten Entzündungsstadium. Auch hier ist die Amylaseausscheidung zugunsten der vermehrten Serumproteine vermindert. In Ruhe beträgt der Anteil der Amylasen 31%, bei Reiz 29%. Der Albuminanteil ist wiederum stark erhöht, in Ruhe beträgt er 13%, unter Stimulation 15% (Tab. 2c).

Die chronisch-intermittierende Entzündung im klinisch unauffälligen Intervall steht im Gegensatz zu den beiden akuten Fällen. Hier ähnelt das Verhalten der Banden (Tab. 2d) eher dem der Normalprobanden, mit der Einschränkung, daß der relative Anteil der Amylasen mit

32% niedriger ist als im Normalsekret. Unter Reiz steigt der Wert für die Amylasen zwar auf 38% an, aber kaum über den Ruhewert des Normalsekretes. Das Verhalten der Albuminbande zeigt keine Unterschiede zu dem des Normalsekrets, der Anteil in Ruhe liegt bei 10%, unter Reiz bei 5%.

Die Bandenveränderungen der d_{1-4} - und der h-Bande wurden statistisch mit dem T-Test ausgewertet. Die Ergebnisse der Signifikanzberechnungen finden sich in Tab. 1.

Tabelle 1: Signifikanzberechnungen der Bandenveränderungen d und h nach dem Students T-Test im Vergleich zu Normalsekreten bei:

	AMYLASE	ALBUMIN
akuter Entz.		
Ruheseekret	0,005	0,005
Reizsekret	< 0,001	« 0,001
chron. Entz. (akut)		
Ruheseekret	0,02	0,001
Reizsekret	0,001	< 0,001
chron. Entz. (unauff.)		
Ruheseekret	0,01	0,005
Reizsekret	0,05	0,03

c) Diskussion

Die Diagnose der akuten Parotitis wird durch die klinischen Beschwerden Schmerz, Schwellung, Rötung und eingeschränkten Speichelfluß erleichtert. Während es bei den chronisch-intermittierenden Entzündungen vor allem schwierig ist den Grad der Parenchymschädigung zu beurteilen. Neben der histologischen Untersuchung und der Speicheldrüsenszintigraphie steht heute die Sialographie zu diesem Zweck im Vordergrund. In neuerer Zeit trat als weitere Untersuchungsmöglichkeit die Funktionsszintigraphie hinzu, die es ermöglicht, die Leistungsfähigkeit des Parenchyms anhand eines Speicherungszeitprofils der Nukleotidanreicherung zu beurteilen (Hug und Holtgreve, 1974). Dennoch ist die Aussagekraft dieser aufwendigen und teuren Methode beschränkt.

In dieser Arbeit ging es um die Frage, ob es diskelektrophoretische Veränderungen des Drüsensekrets gibt, die diagnostische Hinweise bei akuten und chronischen Entzündungen geben können. Es stellte sich heraus, daß zwei bereits identifizierte Proteine, die "d"- und "h"-Bande, welche die Amylasen und das Albumin darstellen, sich hinsichtlich ihres Anteils an der Ausscheidung gesunder und entzündeter Drüsen unterscheiden.

Der relative Anteil der Amylasen im Sekret ist als Parameter für die Leistungsfähigkeit des Parenchyms zu betrachten, da die Amylasen das Hauptprotein, der von den Acini sezernierten Proteine, darstellt. Das drückt sich bei der akuten und chronischen Entzündung in einer deutlichen Verminderung dieser Enzymproteine aus. Bei der chronischen Entzündung im freien Intervall kommt dieser Tatsache besondere Bedeutung zu, da das Sekret hier im sonstigen elektrophoretischen Verhalten dem Normalsekret ähnelt. In der klinisch unauffälligen Phase der chronischen Parotitis spiegelt also der Abfall der Amylase-Sekretion den Verlust an Parenchymkapazität wieder.

Die Ausscheidung des Albumins, dessen Anteil sich im Normalsekret unter Reiz vermindert, kann als Ausdruck für die Permeabilität des Gangsystems für Proteine gelten. Eine entzündungsbedingte Schädigung des Gangsystems äußert sich in einer erhöhten Transsudation der Serumproteine, also auch des Albumins. Diese Permeabilitätssteigerung des geschädigten Gangsystems findet ihren Ausdruck in der starken Erhöhung des Albuminanteils im Sekret bei den akuten Formen der Entzündung, wobei noch ein Anstieg unter Stimulation zu verzeichnen ist, während im Normalsekret eine Verminderung des Albumins vorliegt. Die akute Parotitis kann elektrophoretisch nicht von der chronisch-rezidivie-

renden im akuten Stadium unterschieden werden, die Anamnese schafft hier Klärung.

Die diskelektrophoretische Untersuchung kann also nicht nur ein Baustein in der Diagnostik der Ohrspeicheldrüsenerkrankung sein, sondern auch der Dokumentation über die Akuität der Entzündung sowie über die Zu- oder Abnahme der Parenchymschädigung dienen.

In weiteren Untersuchungen müßten andere drüsenspezifische Erkrankungen wie Sialadenose und Tumore in ihrem diskelektrophoretischen Verhalten untersucht werden.

C) Zusammenfassung:

Parotissekrete von akut und chronisch entzündeten Ohrspeicheldrüsen wurden diskelektrophoretisch untersucht. Vor allem zwei Banden wurden im Vergleich mit Normalsekreten näher betrachtet. Die eine Bande "d" entspricht den Isoamylasen, die andere Bande "h" wurde immunologisch als Albumin identifiziert. Diese beiden Banden zeigen unter Ruhe und Reiz signifikante Unterschiede bei entzündlichen Drüsenerkrankungen im Vergleich zu Normalprobanden. Der Abfall der Amylasen ist als Ausdruck der verminderten Parenchymkapazität zu werten, der Anstieg des Albumins, insbesondere unter Reiz, bei den akuten Formen spiegelt den Entzündungszustand des Gangepithels und die erhöhte Permeabilität für Serumproteine wider.

Photographische Auswertung der Diskelektrophoresen
Beispiel für einen Normalbefund:

PROBAND

Ruhe Reiz

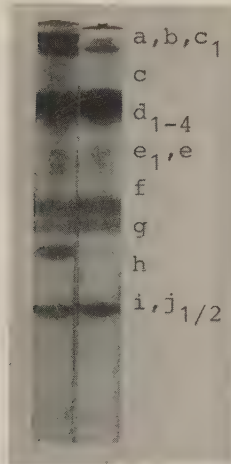


Abb. 2a: Deutlich sieht man die Abnahme der Banden
"a,b,c₁" und "h", während die Banden "d₁₋₄"
an Intensität zunehmen (Siehe Tab. 3 u. 4).

Photographische Auswertung der Diskelektrophoresen
Beispiel für einen pathologischen Befund:

AKUTE PAROTITIS

Ruhe Reiz

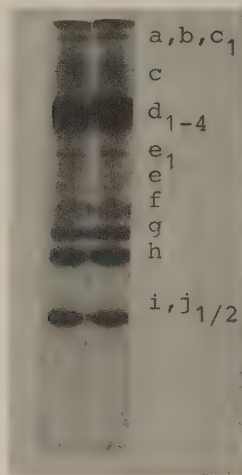


Abb. 2b: Gegenüber dem Normalbefund fällt hier besonders die Zunahme der Intensität bei der Bande "h" unter Reiz auf (Siehe Tab. 5 u. 6).

Photographische Auswertung der Diskelektrophoresen

Beispiel für einen pathologischen Befund:

CHRON. PAROTITIS (AKUTE PHASE)

Ruhe Reiz

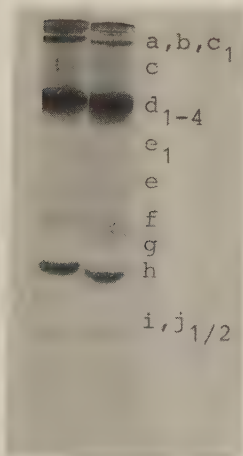


Abb. 2c: Wie bei der akuten Parotitis nimmt auch hier die Intensität der Bande "h" unter Reiz nicht ab (Die hellere Farbe der Probe resultiert aus einem niedrigeren Gesamtproteingehalt). (Siehe Tab. 7 und 8)

Photographische Auswertung der Diskelektrophorese
Beispiel für einen pathologischen Befund:

CHRON. PAROTITIS (KLIN. UNAUFFÄLLIG)

Ruhe Reiz

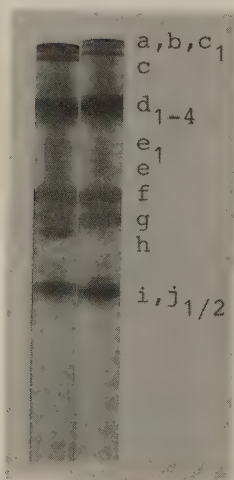
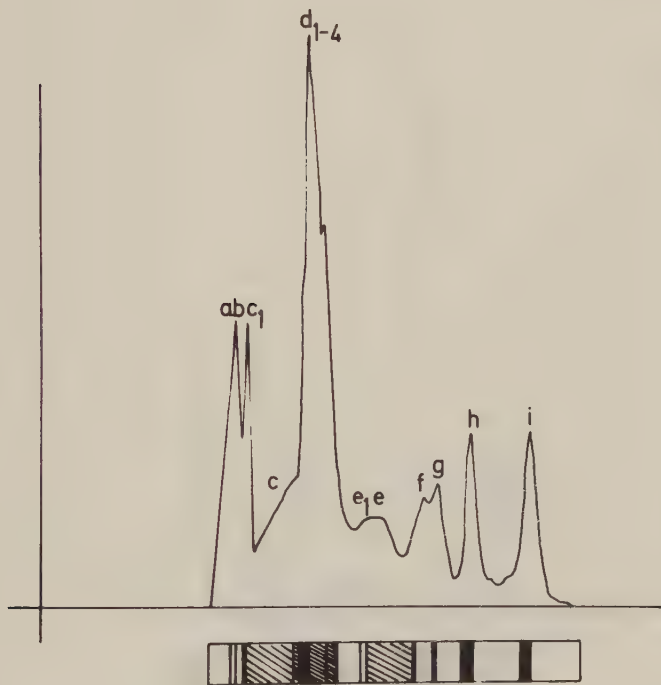


Abb. 2d: Das Bandenmuster unter Ruhe und Reiz
ähnelt hier dem Normalbefund, die Unterschiede bei den Banden "d₁₋₄" lassen sich nur densitometrisch erfassen (Tab. 9, 10).

Abb. 3: Densitogramm der Parotitissekretelektrophorese

Proband K.S.:

Ruhesekret

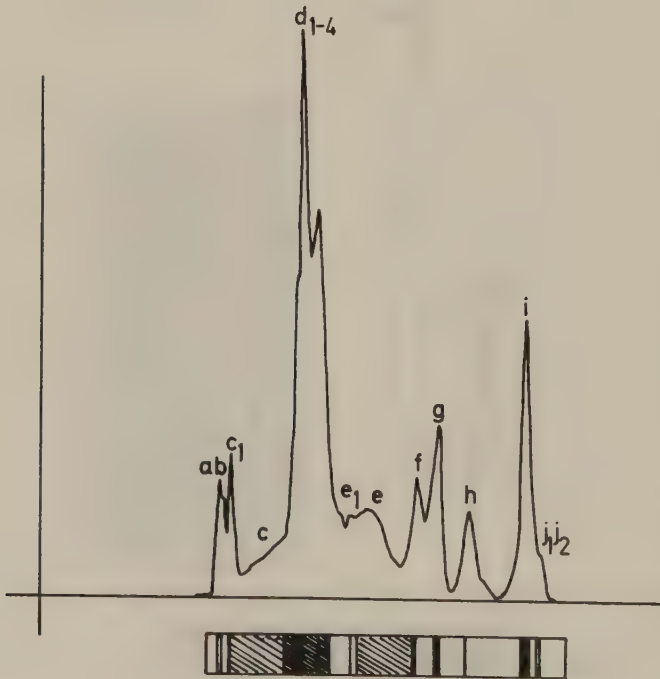


Das Densitogramm zeigt die Bande "d" (entspr. den Isoamylasen) als höchsten Peak, die Bande "h" (entspr. dem Albumin) etwa gleich hoch wie die Bande "i". Die Änderungen unter Reiz zeigt die Abb. 4.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 3.

Abb. 4: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese
Proband K.S.

Reizsekret
(Ascorbinsre.)



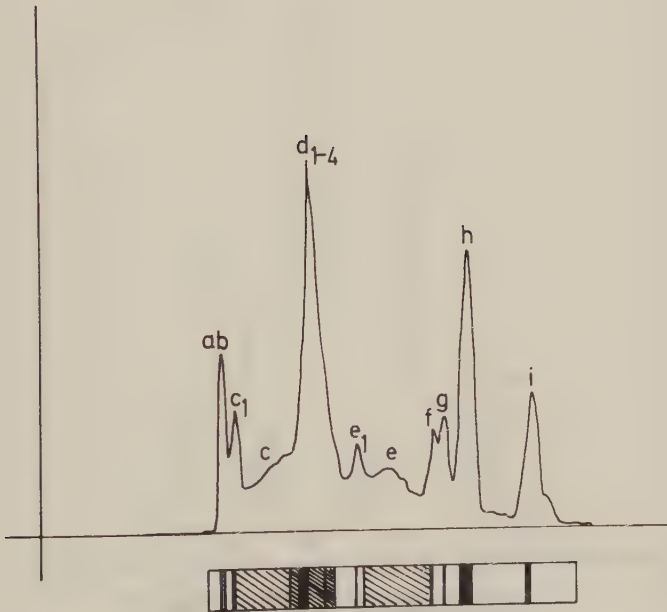
Hier zeigt sich, daß der Anteil der Bande "d" zunimmt (Peak "d" breiter). Da die Bande "d" den Isoamylasen, dem Hauptprotein der Gl. Parotis, entspricht, ist dieser Anstieg unter Reiz ein Parameter für die Leistungsfähigkeit des Parenchyms. Im Gegensatz dazu vermindert sich der Anteil des Albumins (Bande "h") unter Reiz stark, da die Flußrate entsprechend ansteigt.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 4.

Abb. 5: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese

Patient H.P.: A k u t e P a r o t i t i s

Ruhesekret

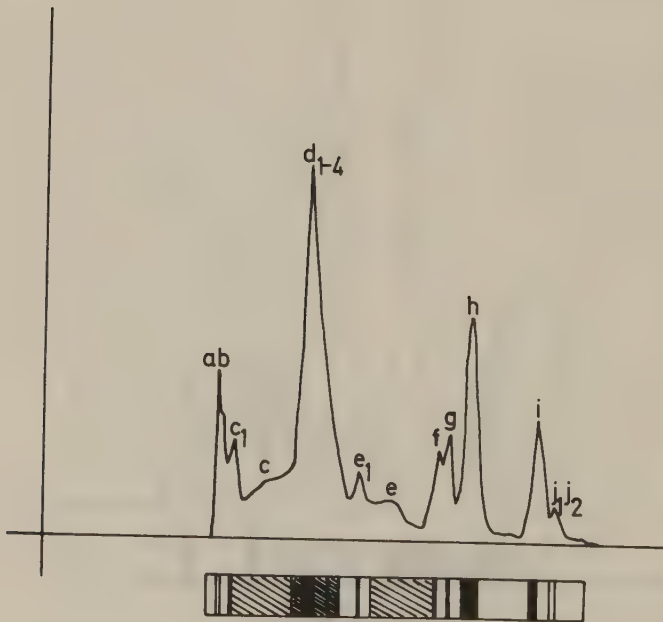


Der Anteil der Isoamylasen (Bande "d") ist wiederum der höchste, aber im Vergleich zu dem des Probanden vermindert, während der Anteil des Albumins (Bande "h") im Vergleich dazu erhöht ist. Die Änderungen unter Reiz zeigt die Abb. 6.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 5.

Abb. 6: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese
Patient H.P.: A k u t e P a r o t i t i s

Reizsekret
(Ascorbinsre.)



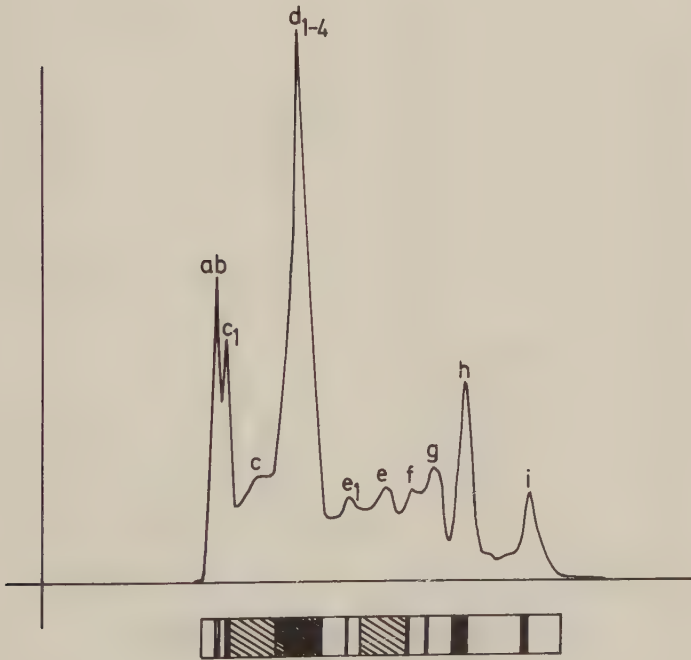
Der Anteil der Amylasen (Bande "d") nimmt im Gegensatz zu der des Probanden unter Reiz nicht zu: Die Parenchymkapazität der Drüse ist vermindert. Der Anteil des Albumins (Bande "h") fällt hier nicht ab, wie es aufgrund der Zunahme der Flußrate zu erwarten wäre: Die Permeabilität des Gangepithels ist bei der entzündeten Drüse erhöht.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 6.

Abb. 7: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese

Patient F.R.: C h r o n. P a r o t i t i s
(akute Phase)

Ruhesekret



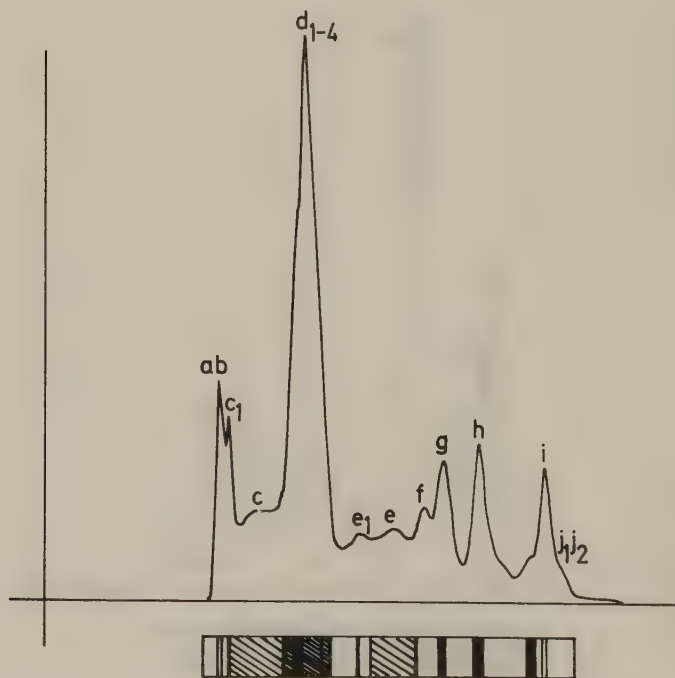
Die Anteile der Amylasen (Bande "d") und des Albumins (Bande "h") entsprechen ziemlich genau denen bei der akuten Parotitis. Die Änderungen unter Reiz zeigt die Abb. 8.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt Tabelle 7.

Abb. 8: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese

Patient F.R.: C h r o n. P a r o t i t i s
(akute Phase)

Reizsekret
(Ascorbinsre.)



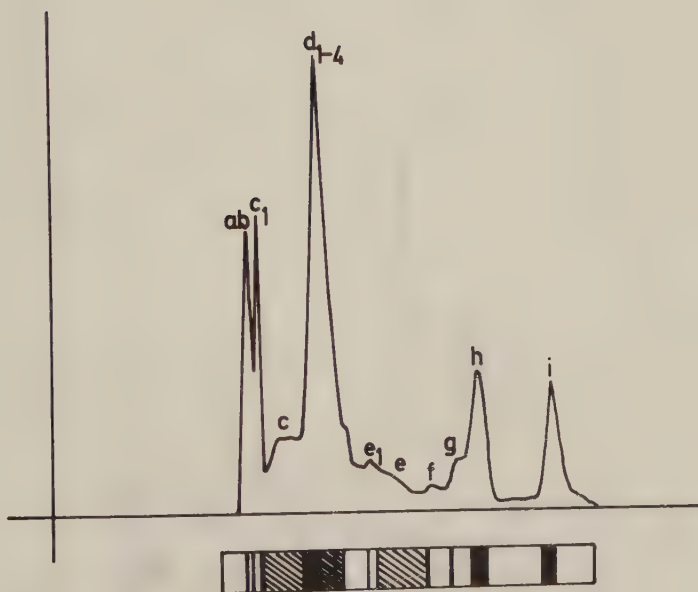
Der Anteil der Amylasen (Bande "d") ist hier wie bei der akuten Parotitis unter Reiz nicht erhöht: Die Parenchymkapazität der Drüse ist vermindert. Der Anteil des Albumins (Bande "h") bleibt hoch: Die Permeabilität des Gangepithels ist entzündungsbedingt erhöht.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 8.

Abb. 9: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese

Patient X.H.: Chron. Parotitis
(klin. unauffällig)

Ruhesekret



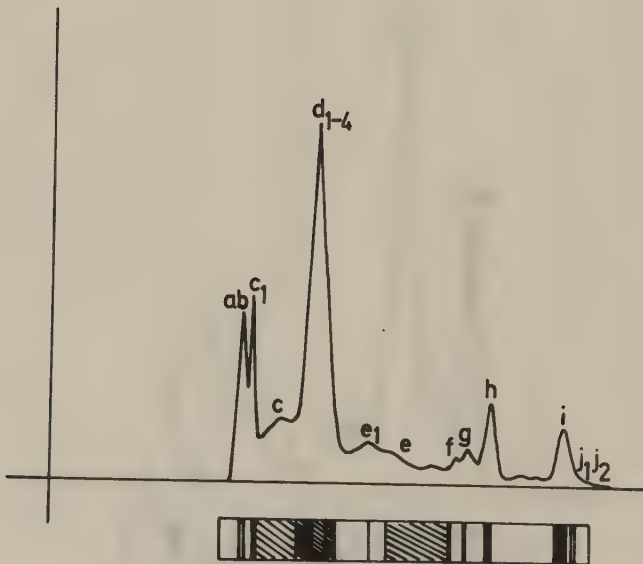
Die Anteile der Amylasen (Bande "d") und des Albumins (Bande "h") entsprechen etwa denen bei dem Sekret der Probanden, mit der Ausnahme, daß die Werte für die Amylasen im Durchschnitt meßbar niedriger sind: Ein Hinweis auf die verminderte Parenchymkapazität der chron. entzündeten Drüse, obwohl die klinischen Beschwerden nur gering sind. Die Änderungen unter Reiz zeigt die Abb. 10.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 9.

Abb. 10: Densitogramm der Parotissekretelektrophorese

Patient X.H.: C h r o n . P a r o t i t i s
(klin. unauffällig)

Reizsekret
(Ascorbinsre.)



Der Anteil der Amylasen (Bande "d") nimmt gegenüber dem Ruhesekret zu, aber im Durchschnitt nur auf einen Wert, der dem des Ruhesekrets der Probanden entspricht: Ein Hinweis auf die verminderte Parenchymkapazität der chronisch entzündeten Drüse mit klinisch unauffälligem Bild. Da der Anteil des Albumins (Bande "h") unter Reiz deutlich abfällt, ergibt sich hier kein Anhalt für eine ausgeprägte Permeabilitätserhöhung des Gangepithels.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Banden zeigt die Tabelle 10.

	ab	c_1	c	d_{1-4}	e_1	e	f	g	h	i	j_1, j_2
a_1	6,9	7,8	9,0	37,2	9,1	4,7	6,2	8,4	10,7		
a_2	4,0	4,6	8,0	44,1	9,7	5,6	7,9	3,4	12,5		
b_1	7,0	8,0	11,5	29,2	12,8	4,3	4,5	12,0	7,7		
b_2	4,9	5,9	10,8	30,3	13,2	5,7	5,6	16,1	8,4		
c_1	7,7	7,7	13,0	31,7	10,0	3,7	5,0	13,4	7,7		
c_2	5,8	6,4	12,2	29,0	12,1	4,8	5,8	15,2	8,8		
d_1	7,7	8,2	10,6	31,7	13,0	4,2	5,0	10,4	9,4		
d_2	6,7	6,8	12,2	37,8	11,7	4,8	5,8	4,3	9,3		

Tabelle 2: Erläuterungen siehe nächste Seite

Erläuterungen zur Tabelle 2:

Die Tabelle zeigt links die Verteilung der Proteinbanden in den Elektrophorese-Gelen in schematischer Darstellung. Rechts finden sich die prozentualen Anteile dieser Fraktionen am Gesamtprotein des Parotissekretes. Es handelt sich um Durchschnittswerte der vier untersuchten Gruppen:

$a_{1/2}$ = Parotissekret von Probanden unter Ruhe/Reiz

$b_{1/2}$ = Par.-Sekret von Pat. mit akuter Parotitis
unter Ruhe/Reiz

$c_{1/2}$ = Par.-Sekret von Pat. mit chron. Parotitis
(akute Phase) unter Ruhe/Reiz

$d_{1/2}$ = Par.-Sekret von Pat. mit chron. Parotitis
(klin. unauffällig) unter Ruhe/Reiz

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme von 10 Probanden: R u h e s e k r e t

Prob.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
L.G. 27J.	6		8	9	33		8	6	8	7		15
R.M. 22J.	5		8	7	43	2	5	5	6	10		9
K.S. 24J.	7		7	9	41		9	4	6	8		9
E.K. 20J.	8		8	16	34		8	3	4	10		9
S.L. 47J.	6		6	5	39		11	5	7	8		13
J.B. 40J.	10	12		7	37		5	5	6	7		11
H.K. 15J.	6		6	8	37		9	5	8	10		11
S.W. 53J.	9		8	6	37		11	5	5	8		11
A.K. 32J.	6		7	13	34	5	6	5	6	9		9
L.J. 21J.	6		8	10	37		12	4	6	7		10
$\bar{x}$			6,9	7,8	9,0	37,2	9,1	4,7	6,2	8,4		10,7

Tabelle 3

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme von 10 Probanden: R e i z s e k r e t

Prob.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
L.G. 27J.	4	5	9	37	8	6	11	3	17			
R.M. 22J.	3	4	7	53	6	3	4	8	3	9		
K.S. 24J.	4	4	5	47	10	5	8	4	13			
E.K. 20J.	6	7	16	42	11	4	4	4	6			
S.L. 47J.	4	5	5	54	7	5	6	3	11			
J.B. 40J.	3	4	5	42	11	7	8	2	16			
H.K. 15J.	3	4	8	41	8	8	10	5	13			
S.W. 53J.	6	6	6	42	11	5	6	5	13			
A.K. 32J.	4	4	11	39	11	5	10	3	13			
L.J. 21J.	3	3	8	44	11	7	8	2	14			
$\bar{x}$	4,0	4,6	8,0	44,1	9,7	5,6	7,9	3,4	12,5			

Tabelle 4

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme von 4 Patienten mit dem klinischen Bild einer akuten Parotitis: R u h e s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
H.P. 66J.	6	5	10	33	5	10	4	5	14	8		
W.S. 36J.	7	8	14	28	10	4	6	15	8			
K.G. 41J.	9	11	12	33	13	4	2	9	5			
A.H. 44J.	6	8	10	23	5	8	5	5	10	10		
$\bar{x}$	7,0	8,0	11,5	29,2	12,8	4,3	4,5	12,0	7,7			

Tabelle 5

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme
von 7 Patienten mit dem klinischen Bild einer akuten
Parotitis: R e i z s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
H.R. 29J.	8		12	9	26	6	7	5	6	15		6
J.S. 54J.	3		14	9	30		11	6	5	23		9
A.S. 80J.	2		3	12	29	8	10	10	6	12		8
H.P. 66J.	5		5	9	38	4	7	4	4	16		9
W.S. 36J.	4		4	11	34		9	6	5	17		10
K.G. 41J.	6		7	14	30	6	5	4	4	15		9
A.H. 44J.	6		6	12	25	7	6	5	9	15		9
$\bar{x}$	4,9	5,9	10,8	30,3	6,2	7,0	5,7	5,6	16,1	8,4		

Tabelle 6

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme
von 3 Patienten mit sialographisch nachgewiesener chro-
nischer Parotitis, klinisch im Bild der akuten Phase:

R u h e s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
G.S. 39J.	6	7	11	30	11	4	6	16	9			
E.F. 49J.	11	10	15	31	6	3	3	2	12	7		
F.R. 27J.	6	6	13	34	5	6	4	7	12	7		
$\bar{x}$	7,7	7,7	13,0	31,7	5,5	4,5	3,7	5,0	13,4	7,7		

Tabelle 7

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme von 5 Patienten mit sialographisch nachgewiesener chronischer Parotitis, klinisch im Bild der akuten Phase:

R e i z s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
M.W. 44J.	7	7	11	22	9	5	7	6	15	11		
M.S. 15J.	4	6	11	33	4	5	5	4	16	11		
G.S. 39J.	6	8	17	27	11	4	5	15	7			
E.F. 49J.	7	7	13	25	10	3	3	4	21	7		
F.R. 27J.	5	4	9	38	4	8	5	10	9	8		
$\bar{x}$	5,8	6,4	12,2	29,0	6,8	5,3	4,8	5,8	15,2	8,8		

Tabelle 8

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme
von 6 Patienten mit sialographisch nachgewiesener chro-
nischer Parotitis mit klinisch unauffälligem Bild:

R u h e s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
X.H. 47J.	8	8	9	39	8	3	4	11	10			
M.M. 19J.	6	9	9	33	13	6	6	9	9			
K.K. 51J.	9	8	12	27	13	5	5	11	9			
E.K. 20J.	8	9	14	35	13	3	4	9	5			
F.V. 37J.	7	7	10	28	16	4	6	11	11			
R.S. 47J.	8	8	10	28	15	4	4	11	12			
$\bar{x}$	7,7	8,2	10,6	31,7	13,0	4,2	5,0	10,4	9,4			

Tabelle 9

Ang. in %

Densitometrische Auswertung der Diskelektropherogramme von 6 Patienten mit sialographisch nachgewiesener chronischer Parotitis mit klinisch unauffälligem Bild:

R e i z s e k r e t

Pat.	a	b	c ₁	c	d ₁₋₄	e ₁	e	f	g	h	i	j _{1/2}
X.H. 47J.	8	7	12	44	11	4	4	4	4	5		
M.M. 19J.	4	5	7	43	10	6	5	6	14			
K.K. 51J.	7	7	12	30	14	5	8	5	12			
E.E. 20J.	8	8	15	38	11	4	5	5	6			
F.V. 37J.	8	9	16	32	11	5	6	6	7			
R.S. 47J.	5	5	11	40	13	5	7	3	11			
$\bar{x}$	6,7	6,8	12,2	37,8	11,7	4,8	5,8	4,8	9,3			

Tabelle 10

Ang. in %

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

Albegger, K.W., O. Müller: Der tagesrhythmische Sekretionszyklus der Glandula submandibularis der Ratte. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.u.Kehlk.-Heilk. 204 (1973)27

Bendik-Spät, E.: The composition of unstimulated human parotid saliva, Arch.oral.Biol.18(1973)39

Benedik-Spät, E.: The composition of human stimulated saliva, Arch.oral.Biol.18(1973)1091

Bland, J.H.: Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes. Thieme, Stuttgart 1959

Brands, Th.: Diagnose und Klinik der Erkrankungen der großen Kopfspeicheldrüsen. Urban u. Schwarzenberg, München 1972

Brown, C.C.: The parotid puzzle: A review of the literature on human salivation and its applications to psychophysiology, Psychophysiology 8(1969)161

Dawes, C., B.Y. Ong: Circadian rhythms in the concentrations of protein and the main electrolytes in human unstimulated parotid saliva. Arch.oral.Biol. 18 (1973)1233

Ferguson, D.B. u.a.: Circadian rhythm in human parotis flowrate und composition. Arch.oral.Biol. 18(1973)1155

Hug I., E.A. Holtgreve: Entzündliche Erkrankungen der Parotis-Korrelation von Sialographie und Funktions-szintigraphie. Laryng.Rhinol.53(1974)213

Krepler, P.: Das Krankheitsbild der rekurrierenden pyogenen Parotitis. Wien.klin.Wschr.70(1958)120

Kreusser, W.u.a.: Speichелелектроlyte und Flußrate bei terminaler Niereninsuffizienz. Arch.klin.exp. Ohr.-Nas.-Kehlk.Heilk.199(1971)614

Maurer, H.R.: Diskelektrophorese, de Gruyter, Berlin (1968)

Mayo, J.W., D.M. Carlson: Protein composition of human submandibular sekretions. Arch.Bioch.Biophys. 161(1974)134

Mehnert, H.: Zur Klinik der akuten eitrigen Parotitis. Wien.med.Wschr.112(1962)502

Nissen, H.H.: Rekurrierende Parotitis im Kindesalter. Ärztl.Wschr.(1955)1110

Rauch, S.: Die Speicheldrüsen des Menschen. Thieme, Stuttgart 1959

Schulz, H.G.: Das Röntgenbild der Kopfspeicheldrüsen. J.A. Barth, Leipzig 1969

Seifert, G.: Die Mundspeicheldrüsen; aus: Doerr, Uehlinger: Spezielle pathol. Anatomie Bd. I. Springer Berlin 1966 S161

Seifert, G.: Klinische Pathologie der Sialadenitis und Sialadenose, HNO-Wegw.19(1971)1

Shannon, I.L., R.P. Suddick: Effekts of ligth and darkness on human parotid salivary flowrate and chemical composition. Arch.oral.Biol.18(1973)601

Shurk, A.u.a.: Methoden der quantitativen Eiweißbestimmung im menschlichen Parotisspeichel. Acta otorhinolaryng. 71(1971)71

Smith, Q.T.u.a.: Polyacrylamid gel slab electrophoresis of human salivary proteins. Arch.oral.Biol.13(1974)407

Steiner, I.C., P.J. Keller: An electrophoretic analysis of the protein components of human parotid saliva. Arch.oral.Biol.13(1968)1213

Truniger, B.: Wasser- und Elektrolytfibel. Thieme, Stuttgart 1969

Wolf, R.O., L.L. Taylor: A comperative study of saliva protein analysis. Arch.oral.Biol.9(1964)135

Zippel, R.u.a.: Zur Elektrophorese des Parotissekretes. I. Mitteilung. Z.Laryng.Rhinol.47(1968)500

Zippel, R.u.a.: Zur Elektrophorese des Parotissekretes. II. Mitteilung-Membranfolienelektrophorese. Z.Laryng.Rhinol.47(1968)891

Lebenslauf

Ich wurde am 30.1.1951 in Aham als Sohn des Pfarrers Werner Koch geboren.

1953 wanderte meine Familie nach Valencia/Venezuela aus. Dort besuchte ich die Grundschule von 1956 bis 1963.

1963 kehrten wir nach Deutschland zurück und lebten bis Anfang 1964 in Eckernförde, wo ich die Quinta des Gymnasiums besuchte.

Im Februar 1964 zogen wir nach Marktoberdorf um. Dort besuchte ich das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium von der zweiten Klasse bis zum Abitur 1971.

Im Herbst 1971 begann ich das Medizin-Studium an der Ludwig-Maximilians Universität München.

